Institut royal des Sciences naturelles de Belgique | Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen

BULLETIN | MEDEDELINGEN

Tome XLI, n° 5 | Deel XLI, nr 5

Bruxelles, mai 1964. | Brussel, mei 1964.

CONTRIBUTIONS A L'ETUDE DES BACTERIES MARINES DU LITTORAL BELGE.

1. — Un appareil simple pour détacher et obtenir en suspension les bactéries contaminant des surfaces (*),

par Guido PERSOONE (Gand).

1. INTRODUCTION.

Au cours de nos études sur la contamination et le fouling de surfaces immergées en mer, nous avons été confrontés avec le problème de l'analyse qualitative et quantitative des bactéries qui se déposent sur un substrat solide expérimental.

Jusqu'à ce jour, la récupération de micro-organismes contaminant des surfaces est considérée comme étant très difficile et le pourcentage d'organismes recouvrés est toujours bas.

W. G. WALTER (1955) et V. W. GREENE et HERMAN (1961) ont fait le bilan des techniques utilisées. Elles sont pour la plupart des modifications de 3 méthodes principales :

1) la méthode de contact, ou application d'une gélose nutritive contre la surface à examiner;
2) la « swab-rinse » method;
3) l'agitation de la surface contaminée dans une solution stérile.

(*) Etude entreprise par le Centre belge de recherches navales (CeBeReNa) et subsidiée par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I. R. S. I. A.).

En 1962, V. W. GREENE, D. VESLEY et K. M. KEENAN y ajoutent la « swab-pression » method, dont le collecteur (un morceau de feutre collé sur un cylindre) est roulé sur la surface contaminée puis sur une gélose.

Aucun de ces procédés n'a pu nous donner des résultats satisfaisants et reproductibles.

C'est pourquoi nous avons réétudié le problème, et présentons le dispositif ci-après, qui, sans prétendre apporter la solution définitive du problème, nous a fourni de bien meilleurs résultats.

Le principe fondamental consiste à enlever les bactéries de leur substrat par une double action répétée de rinçage sous pression d'eau, suivi de succion (« waterpressure and suction - rinsing method »).

L'appareil (fig. 1) a été conçu pour traiter des surfaces solides de toute nature, de mêmes dimensions qu'une lame porte-objet.

Il est néanmoins facile, en l'agrandissant, de construire un engin pouvant traiter des surfaces de dimensions supérieures.

Les résultats de notre appareil, comparés à ceux obtenus par les méthodes classiques, feront l'objet d'une publication séparée.

2. PREPARATION ET ASSEMBLAGE (fig. 1-A).

1) Dans 2 cylindres d'aluminium de 8 mm de diamètre et de 15 cm de longueur, fermés d'un côté, on scie (au milieu) une fente longitudinale de 0,1 mm de largeur, sur 2,7 cm de longueur.

Deux tuyaux de caoutchouc (longueur 10 cm), reliés d'un côté aux 2 tubulures d'un tube de verre en Y, sont glissés sur les extrémités libres des 2 cylindres d'aluminium.

Le tube de verre en Y est relié par un autre tuyau de caoutchouc (tuyau n° 1) muni d'une aiguille (aiguilles classiques pour percer les bouteilles de plasma) au réservoir dont mention ci-après.

2) Au milieu du fond d'un Erlen-Meyer (3) de 500 ml (à large col : 3 cm de diamètre), on pratique (scier) une ouverture laissant passer une lame porte-objet (7,5 cm × 2,5 cm × 0,1 cm) et une pince à manche très long (4) glissant dans un carton (5) servant à recouvrir l'ouverture.

3) Un cylindre de verre (6) de même diamètre que le col de l'Erlen-Meyer est étiré d'un côté (diamètre terminal 5-6 mm). A cette extrémité on ajuste un bout de caoutchouc (7) terminé par un court tube de verre (8) étiré en pointe et fermé.

La longueur de ce cylindre, jusqu'au point de rétrécissement, sera d'environ 7 cm.

On soude l'extrémité non effilée du cylindre au col de l'Erlen-Meyer.

A 1 cm de la ligne de soudure, on pratique dans la largeur du col de l'Erlen-Meyer, face à face, deux trous rectangulaires de 18 mm de large sur 8 mm de haut.

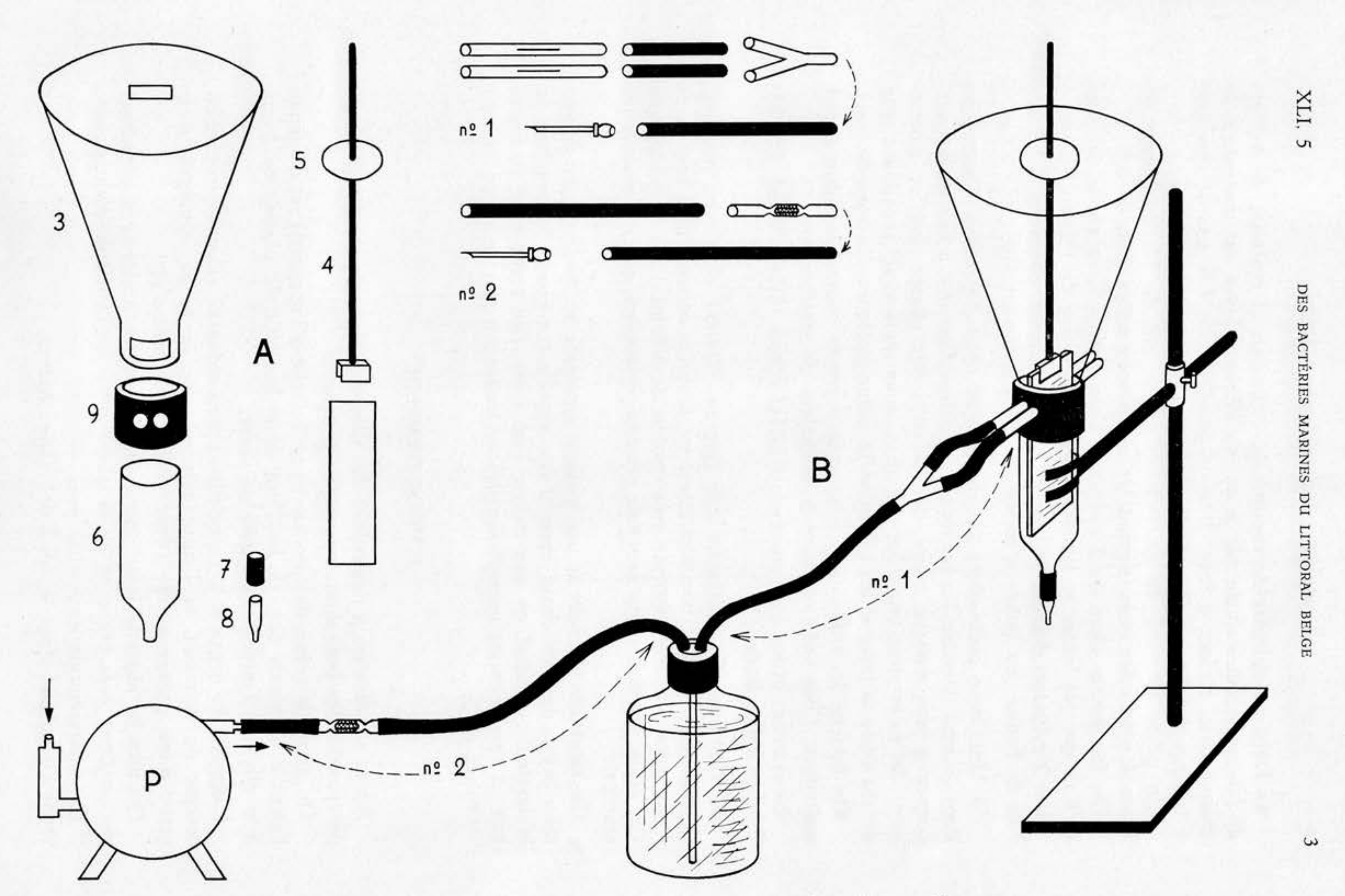


Fig. 1. — Schéma de l'appareil : A en pièces détachées, B assemblé.

4) Dans un cylindre de caoutchouc (9) épais et renforcé, de 4-5 cm de longueur, qui s'ajuste sur le col de l'Erlen-Meyer, on poinçonne de chaque côté, et face à face, 2 trous parallèles de 7-8 mm de diamètre à 1,2 mm de distance l'un de l'autre.

On glisse le rond de caoutchouc sur le col de l'Erlen-Meyer de façon à placer les trous devant les ouvertures sciées dans le col.

On fait passer alors les 2 cylindres d'aluminium à travers le col, jusqu'à ce que les fentes se trouvent bien à l'intérieur de l'Erlen-Meyer.

Les 2 cylindres devront se trouver horizontalement, parallèles, à 1,2 mm l'un de l'autre, les fentes à même hauteur, se faisant face.

5) Une lame porte-objet (ou tout autre objet de mêmes dimensions dont on veut détacher les bactéries), attachée d'un côté à une pince quelconque à long manche mince, doit pouvoir être glissée dans un mouvement de va-et-vient entre les cylindres, sans qu'il y ait cependant trop de jeu entre la lame et les cylindres (à peine quelques dixièmes de mm).

On bouche les trous (aux points de contacts caoutchouc-aluminium) au moyen d'une colle résistant à la chaleur de stérilisation.

Nous avons utilisé avec succès le « UHU Plus » (UHU-Werk. H.u.M. Fischer Bühl, Baden).

6) Une bouteille de plasma vide (par ex. Baxter), avec tube intérieur, de 500 ml, et dont le bouchon intact est toujours recouvert de son enveloppe métallique, est nettoyée puis remplie de 500 ml d'eau physiologique (ou autre solution ayant la même pression osmotique que les organismes étudiés).

Ce réservoir est relié à une pompe aspirante et foulante au moyen d'un tuyau de caoutchouc muni d'une aiguille traversant le bouchon de la bouteille, et doté en son milieu d'un filtre (un court tube de verre avec 2 constructions entre lesquelles se trouve un peu de ouate tassée) = tuyau n° 2.

3. MODE D'EMPLOI.

Après stérilisation à l'autoclave des divers accessoires, on attache l'appareil entre les bras d'un support (voir croquis : B).

On prend le tuyau de caoutchouc n° 1 (relié à l'appareil), et on pique l'aiguille terminale dans le bouchon de la bouteille de plasma de façon à la placer à l'intérieur du tube de verre.

L'aiguille du tuyau n° 2 (avec filtre) sera enfoncée en un endroit quelconque du bouchon, et l'autre extrémité de ce tuyau appliquée à la sortie d'une pompe à vide (donc côté refoulement d'air).

On attache alors la lame porte-objet (avec les bactéries à détacher) par un bout, à la pince, et on la glisse entre les cylindres d'aluminium.

La contamination extérieure sera empêchée par le carton stérile couvrant l'ouverture dans le fond de l'Erlen-Meyer.

Premier stade. — La pompe souffle l'air dans la bouteille. La pression ainsi exercée projette l'eau avec force à travers les fentes des cylindres d'aluminium contre la lame, et quantité de bactéries sont détachées.

Une fois que tout le liquide de la bouteille a été transféré dans l'Erlen-Meyer, on arrête la pompe, et on glisse le tuyau n° 2 (avec filtre) sur l'entrée (côté suction d'air) de la pompe.

Deuxième stade. — Le vide créé dans la bouteille réaspire l'eau. Comme l'espace entre les fentes et la lame est minime, une forte succion est exercée sur les 2 faces de la lame, et les organismes adhérant au verre sont emportés.

On peut répéter ces deux manœuvres plusieurs fois, en prenant soin, au cours de chaque opération, de lever et d'abaisser la lame porte-objet dans un mouvement de va-et-vient, de façon à faire passer toute la surface un certain nombre de fois entre les fentes.

Stade final. — La dernière manœuvre consistera à transférer tout le liquide chargé des bactéries dans l'Erlen-Meyer. En brisant le bout de verre effilé à l'extrémité inférieure de l'appareil, on recueille la suspension de bactéries dans un récipient stérile.

On aura soin d'homogéniser cette suspension avant de faire des dilutions pour les ensemencements.

Nos vifs remerciements au Prof. Dr F. EVENS, Directeur de l'Institut de Biogéographie et du laboratoire d'Ecologie de l'Université de Gand, et au Dr. E. LELOUP, Directeur de l'Institut d'Etudes Maritimes à Ostende, qui ont grandement contribué par leurs conseils, à la réussite de cette investigation.

RÉSUMÉ.

Description d'un appareil simple pour détacher et obtenir en suspension les bactéries contaminant des surfaces.

SAMENVATTING.

Beschrijving van een eenvouding toestel om bakterien, vast aan een oppervlak, los te maken en in suspensie te brengen.

SUMMARY.

Description of a simple apparatus to remove and to suspend bacteria contaminating surfaces.

Zusammenfassung.

Beschreibung eines einfachen Gerätes zum freimachen und in Suspension bringen von Oberfläche besudelnden Bakterien.

Biogeografisch Instituut
en Laboratorium voor oekologie,
Rijksuniversiteit Gent.

Index Bibliographique.

Walter, W. G.
1955. Bacter. Rev., 19, 284.
Greene, V. W. and Herman.
1961. J. Milk and Food Technol., 24, 202.
Greene, V. W., Vesley, D., and Keenan, K. M.
1962. J. Bact., 84, (1), 188.



AD. GOEMAERE, Imprimeur du Roi, 21, rue de la Limite, Bruxelles-3